

# VeriSeq™ NIPT Solution v2

VeriSeq NIPT Solution v2, toda una revolución en las NIPT, es un ensayo de secuenciación del genoma completo integral y accesible que genera unos resultados precisos para hasta 96 muestras en aproximadamente 26 horas.

## Puntos destacados

- La visión más completa del genoma fetal**  
 Solución de NIPT de DIV para laboratorios que ofrece el menú de pruebas más amplio validado en un estudio de precisión clínica de más de 2000 muestras
- Rendimiento de pruebas superior<sup>1</sup>**  
 Precisión sin igual, los resultados más rápidos y tasas de error bajas
- Solución de DIV sencilla y flexible**  
 Solución fácil de implementar que analiza 24, 48 o 96 muestras por experimento

## Introducción

Las pruebas prenatales no invasivas (NIPT, noninvasive prenatal testing) realizadas con la secuenciación de próxima generación (NGS, next-generation sequencing) proporcionan resultados de cribado fiables de aneuploidías cromosómicas fetales a partir de la semana 10 de gestación (con un solo tubo de sangre materna).<sup>2,3</sup> VeriSeq NIPT Solution v2 aprovecha la potente tecnología de NGS de Illumina para aportar un enfoque de secuenciación del genoma completo (WGS, whole-genome sequencing) a las NIPT, con lo que se amplían las opciones del menú de pruebas para incluir aneuploidías comunes (cromosomas 21, 18 y 13), todas las aneuploidías autosómicas raras (RAA, rare autosomal aneuploidies), aneuploidías de cromosomas sexuales (SCA, sex chromosome aneuploidies) y deleciones y duplicaciones parciales, a las que se hace referencia como "variaciones en el número de copias" (CNV, copy number variation), de  $\geq 7$  Mb de tamaño. Al combinar un amplio menú de pruebas, resultados precisos y tasas de error bajas, VeriSeq NIPT Solution ofrece el cribado más completo del genoma fetal, lo que permite tomar decisiones fundamentadas y oportunas en relación con el embarazo.<sup>4,5</sup>

VeriSeq NIPT Solution v2 incorpora innovaciones en el software, el instrumento y el flujo de trabajo que ponen las NIPT basadas en tecnología NGS al alcance de cualquier laboratorio que realice pruebas de cribado de aneuploidías prenatales clínicas. VeriSeq NIPT, que incluye reactivos, instrumentos y software, así como servicios de instalación y formación, es una solución automatizada y fiable para realizar NIPT de forma interna (Figura 1 y Tabla 1).

Tabla 1: Resumen de VeriSeq NIPT Solution v2

Parámetro	Descripción
Método	Secuenciación del genoma completo
Preparación de bibliotecas	Sin PCR
Composición química	Secuenciación "paired-end"
N.º de muestras	24, 48 o 96 por lote
Tiempo hasta obtención de informe	~26 horas
N.º de técnicos	1
Muestra	De 7 a 10 ml de un solo tubo de sangre materna
Análisis ofrecidos	Estado de aneuploidía de todos los autosomas y cromosomas sexuales Determinadas variaciones en el número de copias subcromosómicas de $\geq 7$ Mb



**Figura 1: Flujo de trabajo de NIPT de DIV completo.** VeriSeq NIPT Solution v2 le ofrece todo lo que necesita para las NIPT con tecnología NGS, incluidos los reactivos para la extracción de ADN, la secuenciación y preparación de bibliotecas; la instrumentación para la secuenciación y preparación de bibliotecas automatizadas con un software gestor del flujo de trabajo; un servidor in situ para un análisis y almacenamiento seguros de los datos, así como el software de análisis de datos con capacidad de generación de resultados clínicos.

Tabla 2: Rendimiento clínico de VeriSeq NIPT Solution v2<sup>a</sup>

	Trisomía 21	Trisomía 18	Trisomía 13	RAA <sup>d</sup>	CNV ≥7 Mb	Cualquier anomalía <sup>e</sup>
<b>Sensibilidad<sup>b</sup></b>	>99,9 % (130/130)	>99,9 % (41/41)	>99,9 % (26/26)	96,4 % (27/28)	74,1 % (20/27)	95,5 % (318/333)
<b>IC del 95 % bilateral<sup>c</sup></b>	97,1 %, 100 %	91,4 %, 100 %	87,1 %, 100 %	82,3 %, 99,4 %	55,3 %, 86,8 %	92,7 %, 97,3 %
<b>Especificidad</b>	99,90 % (1982/1984)	99,90 % (1995/1997)	99,90 % (2000/2002)	99,80 % (2001/2005)	99,80 % (2000/2004)	99,34 % (1954/1967)
<b>IC del 95 % bilateral<sup>c</sup></b>	99,63 %, 99,97 %	99,64 %, 99,97 %	99,64 %, 99,97 %	99,49 %, 99,92 %	99,49 %, 99,92 %	98,87 %, 99,61 %

- a. Siete embarazos gemelares que se han detectado correctamente como T21 no aparecen en la tabla.
- b. El rendimiento básico del cribado se detecta para T21, T18 y T13; además, se excluyen 16 muestras con mosaicos conocidos y 49 adicionales afectadas con anomalías solo en el cribado de todo el genoma; el rendimiento del cribado de todo el genoma se detecta para las RAA y CNV.
- c. IC según el método de puntuación de Wilson
- d. La RAA excluye los cromosomas 21, 18 y 13.
- e. Cualquier anomalía incluye muestras del cribado de SCA y del cribado del genoma completo.

Tabla 3: Concordancia de porcentaje de los resultados de VeriSeq NIPT Solution v2 para la clasificación del sexo fetal con resultados estándar de la referencia clínica

Resultados de VeriSeq NIPT Solution v2	Resultado de examen físico de recién nacidos <sup>a</sup>		Resultados citogenéticos					
	Mujer	Hombre	XX	XY	XO	XXX	XXY	XXY
<b>Porcentaje de concordancia</b>	100 %	100 %	100 %	100 %	90,5 %	100 %	100 %	91,7 %

- a. No hay resultados citogenéticos.

## Visión completa del genoma fetal

Muchas soluciones de NIPT para laboratorios se centran en trisomías en los cromosomas 21, 18 y 13, pero estos representan solo una parte del genoma. Estas pruebas pasarán por alto las CNV de ≥7 Mb que se pueden producir a una tasa de incidencia del 0,10 % y que se han asociado con anomalías fetales y retraso en el desarrollo. Estas pruebas también descartarán los embarazos que den positivo en las pruebas de detección de RAA, que pueden estar asociados con resultados adversos, incluidos el aborto, la restricción del crecimiento intrauterino (IUGR, intrauterine growth restriction), la disomía uniparental (UPD, uniparental disomy), el parto prematuro y las anomalías fetales, entre otros.<sup>6</sup> Con una tasa combinada de RAA del 0,34 %, <sup>6</sup> en comparación con el 0,30 % de la trisomía 21, <sup>7</sup> es posible que el cribado básico de las NIPT por sí solo pueda pasar por alto anomalías significativas.

## Rendimiento de pruebas superior

En función de la precisión de los resultados, el tiempo de respuesta y las tasas de error, VeriSeq NIPT Solution v2 demuestra un rendimiento excelente.

## Precisión sin igual

VeriSeq NIPT Solution v2 se ha sometido a investigaciones exhaustivas para determinar su fiabilidad y precisión clínicas. Las muestras de embarazos afectados cumplían los requisitos para las pruebas si había resultados clínicos disponibles y cumplían con los criterios de inclusión de las muestras. La cohorte comprendía edades gestacionales distribuidas alrededor de las 11 semanas, muestras con fracciones fetales bajas y embarazos gemelares. El estudio realizó pruebas de cribado en > 2300 muestras maternas con resultados conocidos para la detección de la

trisomía 21, la trisomía 18, la trisomía 13, todas las trisomías autosómicas raras, CNV de ≥7 Mb y SCA con VeriSeq NIPT Solution v2 y comparó los resultados con los datos clínicos de referencia. Los resultados demostraron una sensibilidad y especificidad excepcionalmente elevadas en relación con las aneuploidías objetivo y CNV de ≥7 Mb (Tabla 2 y Tabla 3) y una tasa de error de la muestra globalmente baja del 1,2 %.<sup>8</sup>

## Los resultados más rápidos

VeriSeq NIPT Solution v2 ofrece un flujo de trabajo rápido en tres pasos para las NIPT que genera unos resultados precisos en poco más de un día (Tabla 4). Si un técnico sigue las directrices del flujo de trabajo sencillo y automatizado, puede analizar de 24 a 96 muestras en menos de 8 horas con un tiempo de participación activa mínimo. Los métodos basados en matriz y de secuenciación selectiva tienden a tener protocolos de laboratorio más prolongados, lo que requiere más tiempo de participación activa.

Tabla 4: VeriSeq NIPT completo en aproximadamente 1 día

Paso	Tiempo de participación activa	Tiempo total
<b>Preparación de muestras</b> (aislamiento del plasma, extracción de ADN y preparación de bibliotecas)	~2 horas	~8 horas
<b>Secuenciación</b> (carga de bibliotecas y configuración de experimento)	~15 min	~14 horas
<b>Análisis de datos y generación de informe<sup>a</sup></b>	N/A	~4 horas
Tiempo total	~2,25 horas	~26 horas

- a. El tiempo real depende de los procesos de laboratorio individuales y puede variar entre centros. N/A: No aplicable.

## Tasas de error bajas en las pruebas

Los errores en las pruebas, en los que no se puede realizar una llamada de disomía o aneuploidía, constituyen un factor importante en términos de fiabilidad y utilidad clínicas de las NIPT. Las tasas de error de las pruebas NIPT varían de manera significativa en función de la prueba empleada. Se ha observado que las pruebas que utilizan un enfoque selectivo presentan mayores tasas de error que las que secuencian el genoma completo tanto en estudios de experiencia clínica como de validación.<sup>9</sup> VeriSeq NIPT Solution v2 utiliza la WGS para proporcionar datos de sobre en todo el genoma diploide, sin afectar a la precisión ni aumentar las tasas de error o de falsos positivos. En el estudio de rendimiento clínico, aproximadamente el 99 % de las muestras produjeron un resultado en el primer experimento.<sup>8</sup> En la práctica de laboratorio, puede haber suficiente material disponible de la muestra de sangre inicial para repetir el flujo de trabajo de VeriSeq NIPT, en caso de que sea necesario.

## Solución de DIV sencilla y flexible

La solución VeriSeq NIPT Solution v2 integrada proporciona todo lo necesario para realizar el ensayo. El flujo de trabajo automatizado se puede modificar con facilidad para analizar 24, 48 o 96 muestras por experimento para conseguir eficiencia y flexibilidad en la gestión de los volúmenes de muestras.

## Preparación automatizada de bibliotecas

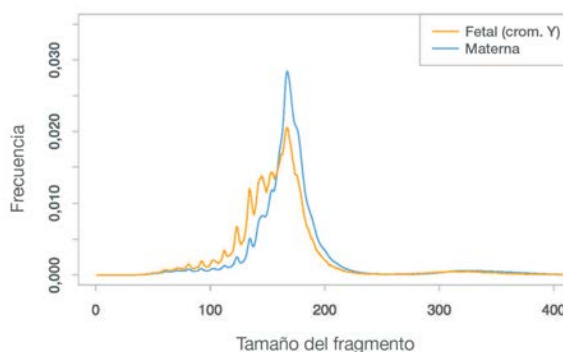
El proceso de VeriSeq NIPT, totalmente automatizado, suministra un flujo de trabajo sencillo que minimiza el tiempo de intervención del técnico y la posibilidad de errores. El protocolo comienza con la obtención de entre 7 y 10 ml de sangre total periférica de mujeres embarazadas en el tubo de recogida de sangre Streck (BCT, Blood Collect Tube) provisto. Los kits de preparación de muestras de VeriSeq NIPT optimizados contienen reactivos y consumibles para preparar bibliotecas de secuenciación a partir de cfDNA. El aislamiento del plasma, la extracción de cfDNA y la preparación de bibliotecas sin PCR, en lo que se incluye la creación de placas de cuantificación, la cuantificación de bibliotecas y la agrupación de estas, constituyen procesos automatizados en el VeriSeq NIPT Microlab STAR, una personalización del sistema Microlab STAR de Hamilton que se ha configurado de forma específica para su uso en el flujo de trabajo de VeriSeq NIPT. El software sencillo VeriSeq NIPT Workflow Manager controla todos los aspectos de la preparación de muestras, entre los que se incluye el seguimiento de estas.

## Secuenciación

VeriSeq NIPT Solution v2 está impulsada por la química de secuenciación por síntesis (SBS, sequencing by synthesis) demostrada de Illumina, la química que genera más del 90 % de los datos de secuenciación en el mundo.<sup>10</sup>

## Aumento de la eficiencia con la secuenciación "paired-end"

Una muestra de sangre materna contiene diferentes longitudes de cfDNA: los fragmentos de mayor longitud tienden a ser de origen materno, mientras que los más cortos han mostrado una mayor correlación con un origen fetal (Figura 2).<sup>11</sup> Con la secuenciación "paired-end", que produce el doble de datos con la misma cantidad de tiempo y esfuerzo que la secuenciación de lectura individual, VeriSeq NIPT Solution v2 identifica con rapidez y eficacia las longitudes de todos los fragmentos de cfDNA en una sola muestra. El algoritmo de VeriSeq NIPT Assay Software utiliza estos datos para enfocar el análisis en los fragmentos más cortos con el fin de aumentar la señal del cfDNA del feto.



**Figura 2: Comparación de tamaño de los fragmentos de ADN libre maternos y fetales:** la secuenciación "paired-end" diferencia fragmentos de ADN libre en función del tamaño. Los fragmentos de mayor longitud tienden a ser maternos, mientras que los más cortos tienden a ser de origen fetal.

## Potencia de diagnóstico en un secuenciador de sobremesa

La secuenciación en VeriSeq NIPT Solution v2 se realiza en el sistema NextSeq™ 550Dx de Illumina, una plataforma autorizada por la FDA que se utiliza para diagnóstico in vitro con certificación CE y que ofrece la potencia de la NGS de alto rendimiento con la asequibilidad de un sistema de sobremesa (Tabla 5). El sistema NextSeq 550Dx cuenta con un flujo de trabajo que permite cargar y procesar directamente y que requiere aproximadamente 30 minutos de tiempo de participación activa. Una interfaz de usuario intuitiva permite a los usuarios trabajar con aplicaciones de secuenciación con una capacitación o un tiempo de configuración del instrumento mínimos.

**Tabla 5: Requisitos de rendimiento del instrumento de NGS**

Parámetro	Especificación
Longitud de lectura	2 × 36 pb
Tipo de archivo de secuenciación	Archivo .BCL
Resultados de secuenciación	400 millones de lecturas
Duración del experimento	~14 horas
Multiplexado	24 o 48 muestras por experimento

## Análisis in situ

El análisis de datos se realiza en un servidor VeriSeq Onsite v2 específico con VeriSeq NIPT Assay Software v2 validado para diagnóstico in vitro. El servidor procesa de manera automática los datos de secuenciación. Pueden ponerse en cola varios lotes de muestras para su análisis en un único servidor. No hace falta enviar datos para su análisis, con el consiguiente ahorro de tiempo y la protección de la identidad de las muestras.

## VeriSeq NIPT Assay Software

VeriSeq NIPT Assay Software filtra y alinea las lecturas con respecto a un genoma de referencia. Un algoritmo avanzado cuenta las lecturas por cromosoma. Las puntuaciones reflejan la cobertura normalizada del cromosoma de la prueba o de la región subcromosómica; además, ayudan a detectar y diferenciar la aneuploidía y las CNV. El software también genera y comunica una estimación de fracción fetal para cada muestra. Los datos de la fracción fetal se combinan con la cobertura y otros datos estadísticos generados durante la secuenciación para evaluar el estado de la aneuploidía.

Para garantizar que las tasas de error de las pruebas sean bajas, VeriSeq NIPT Assay Software incluye el valor de puntuación de la calidad de la muestra de la prueba de confianza de aneuploidía fetal individualizada (iFACT, individualized fetal aneuploidy confidence test). La iFACT indica si el instrumento ha generado suficiente cobertura de secuenciación y calidad de datos, dada la estimación de la fracción fetal para cada muestra, para permitir una llamada de aneuploidías o CNV, incluso para muestras con fracción fetal baja.<sup>12-14</sup> Este valor de corte dinámico permite que VeriSeq NIPT Assay Software genere informes sobre muestras con una baja fracción fetal, lo que redundará en menos fallos de la prueba.<sup>14-16</sup>

## Generación de informes

Tras el análisis de los datos, VeriSeq NIPT Assay Software genera una llamada de detección de aneuploidía ("Aneuploidy Detected") o de no detección de aneuploidía ("No Aneuploidy Detected") para el cromosoma analizado en cada muestra. Si se detecta una CNV, las coordenadas exactas en el genoma se muestran en el informe de salida de esa muestra. La información figura en un archivo .CSV que se puede integrar con un LIMS existente. Los datos se pueden utilizar para crear un informe clínico personalizado según las necesidades del laboratorio.

## Implementación totalmente compatible

Para una integración sin problemas en el laboratorio, VeriSeq NIPT Solution v2 incluye una instalación completa del sistema por parte de un ingeniero de servicio de campo de Illumina cualificado, además de formación para la participación activa. El personal del laboratorio recibe instrucciones detalladas de científicos expertos de Illumina en relación con la extracción de muestras, la preparación de bibliotecas, la secuenciación y el análisis (Tabla 6). Tras la puesta en marcha de los laboratorios, el equipo de asistencia técnica de Illumina ofrece soporte continuado.

Tabla 6: Formación de VeriSeq NIPT Solution v2

Tema	Detalles
Introducción a VeriSeq NIPT Solution v2	Descripción general del seminario sobre el flujo de trabajo y el análisis <ul style="list-style-type: none"> <li>• Guía del equipo auxiliar</li> <li>• Guía de consumibles</li> <li>• Protocolo de extracción de sangre</li> <li>• Protocolo de aislamiento del plasma</li> </ul>
Formación de funcionamiento del instrumento	Formación in situ <ul style="list-style-type: none"> <li>• Instalación del instrumento requerida</li> </ul>
Inspección del centro	Confirmación in situ <ul style="list-style-type: none"> <li>• Instalación del equipo auxiliar</li> <li>• Reactivos necesarios</li> <li>• Conectividad de los componentes del sistema</li> </ul>
Formación in situ	Ensayo realizado por científico de Illumina <ul style="list-style-type: none"> <li>• Muestras de plasma preanalizadas con características de rendimiento conocidas (proporcionadas por Illumina)</li> <li>• Recorrido del flujo de trabajo del ensayo desde el aislamiento del plasma hasta el funcionamiento del instrumento y el análisis de los datos</li> <li>• Formación de análisis de datos</li> </ul>
Pruebas de aptitud in situ	Ensayo realizado por el cliente <ul style="list-style-type: none"> <li>• Muestras de plasma preanalizadas con características de rendimiento conocidas (proporcionadas por Illumina)</li> </ul>

## Resumen

VeriSeq NIPT Solution v2 ha revolucionado la accesibilidad, la fiabilidad y la potencia de las NIPT. Ahora, cualquier laboratorio puede utilizar la NGS para obtener resultados de las NIPT rápidos, fiables y sumamente precisos con tasas de error bajas.

## Información adicional

Si desea obtener más información sobre VeriSeq NIPT Solution v2, visite [www.illumina.com/VeriSeqNIPT](http://www.illumina.com/VeriSeqNIPT).

## Datos para realizar pedidos

Producto	N.º de catálogo
VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (24 muestras)	20025895
VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (48 muestras)	15066801
VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (96 muestras)	15066802
VeriSeq Onsite Server v2	20028403
Habilitación de la solución VeriSeq NIPT	15076162
BCT para ADN libre Streck (CE)	15073345
Instrumento NextSeq 550Dx	20005715

## Declaración de uso previsto

VeriSeq NIPT Solution v2 es una prueba diagnóstica *in vitro* concebida para su uso en pruebas de cribado con el objeto de detectar anomalías genéticas fetales en el genoma completo a partir de muestras de sangre total periférica materna de mujeres con al menos 10 semanas de gestación. VeriSeq NIPT utiliza la secuenciación del genoma completo para detectar las CNV en todos los autosomas y el estado de aneuploidía en todos los cromosomas. La prueba ofrece una opción para solicitar el informe de aneuploidía de los cromosomas sexuales (SCA). Este producto no se debe utilizar como la única base para el diagnóstico u otra decisión en relación con el embarazo.

## Referencias

1. Datos en archivo. Illumina, Inc 2019.
2. Bianchi, D. W.; Platt, L. D.; Goldberg, J. D.; Abuhamad, A. Z.; Sehnert, A. J.; Rava, R. P. [Genome-wide fetal aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing](#). *Obstet Gynecol.* 2012;119(5):890-901.
3. Bianchi, D.W.; Parker, R.L.; Wentworth, J.; et al. [CARE Study Group: DNA sequencing versus standard prenatal aneuploidy screening](#). *N Engl J Med.* 2014;370:799-808.
4. Cálculos de datos en archivo. Illumina, Inc 2019.
5. ACOG Committee on Practice Bulletins—Obstetrics, Committee on Genetics, and the Society for Maternal-Fetal Medicine. [Practice Bulletin No. 163: Screening for Fetal Aneuploidy](#). *Obstet Gynecol.* 2016;127(5):e123-37. doi: 10.1097/AOG.0000000000001406.
6. Pertile, M.D.; Halks-Miller, M.; Flowers, N.; et al. [Rare autosomal trisomies, revealed by maternal plasma DNA sequencing, suggest increased risk of feto-placental disease](#). *Sci Transl Med.* 2017;9(405).
7. Galjaard, R.J.; Henneman, L.; Macville, M.; et al. Implementing NIPT as part of a national prenatal screening program: The Dutch TRIDENT studies. Resumen oral: Conferencia internacional sobre diagnóstico y terapia prenatal; julio de 2018; Amberes (Bélgica).
8. Illumina. Prospecto de VeriSeq NIPT Solution v2. 2019.
9. Illumina. Don't settle for failure. [mkt.illumina.com/rs/600-XEX-927/images/dont-settle-for-failure.pdf](http://mkt.illumina.com/rs/600-XEX-927/images/dont-settle-for-failure.pdf). Acceso: 15 de marzo de 2017.
10. Cálculos de datos en archivo. Illumina, Inc 2017.
11. Lo, Y.M.; Chan, K.C.; Sun, H.; et al. [Maternal plasma DNA sequencing reveals the genome-wide genetic and mutational profile of the fetus](#). *Sci Transl Med.* 2010;2(61):61ra91.
12. Duenwald, S.; Chen, G.; Barbacioru, C.; et al. Development of a Novel Paired-End Sequencing-Based Noninvasive Prenatal Test. Póster presentado en la 36.ª Reunión Anual de la Sociedad de Medicina Materno-Fetal; 1-6 de febrero de 2016; Atlanta (Georgia).
13. Cirigliano V, Ordoñez E, Rueda L, Syngelaki A, Nicolaidis KH. [Performance evaluation of the NeoBona test, a new paired-end massive parallel shotgun sequencing approach for cfDNA based aneuploidy screening](#). *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016; doi: 10.1002/uog.17386. [Publicación electrónica previa a la impresión].
14. Cirigliano, V.; Ordonez, E.; Rueda, L.; et al. Performance evaluation and clinical application of a new paired end MPSS approach for cfDNA based prenatal aneuploidy screening. Póster presentado en la Sociedad Internacional de Diagnóstico Prenatal. 10-13 de julio de 2016; Berlín (Alemania).
15. Wang, E.; Batey, A.; Struble, C.; Musci, T.; Song, K.; Oliphant, A. [Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma](#). *Prenat Diagn.* 2013; 33:662-666.
16. Pergament, E.; Cuckle, H.; Zimmermann, B.; et al. [Single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal screening in a high-risk and low-risk cohort](#). *Obstet Gynecol.* 2014; 124(2 Pt 1):210-218.

Illumina, Inc. • 1.800.809.4566 (llamada gratuita, EE. UU.) • Tel.: +1.858.202.4566 • [techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com) • [www.illumina.com](http://www.illumina.com)

© 2019 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados. Todas las marcas comerciales pertenecen a Illumina, Inc. o a sus respectivos propietarios. Si desea consultar información específica sobre las marcas comerciales, visite [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html). Documento n.º100000033863 v01 ESP QB7743

**Para uso diagnóstico *in vitro*. Póngase en contacto con un representante de Illumina para conocer la disponibilidad local.**

**illumina**®

100000033863 v01 ESP | 5  
English Source: 100000032015 v03